

Aus der Immunologischen Forschungseinheit
Klinikum Steglitz
Freie Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein)

Untersuchungen über die Adjuvanswirkung
von Algin säure

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnärztin Gabriele Wieland-Odenwald
aus Ostercappeln

1976

Aus der Immunologischen Forschungseinheit
Klinikum Steglitz
Freie Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein)

Untersuchungen über die Adjuvanswirkung
von Alginsäure

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnärztin Gabriele Wieland-Odenwald
aus Ostercappeln

Referent: Professor Dr. Tibor Diamantstein
Korreferent: Professor Dr. Ulrich Michael Gross

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 22. November 1976

Gliederung

	Seite
1. Einleitung	1
2. Aufgabenstellung	2
3. Material und Methoden	2
3.1 Versuchstiere	2
3.2 Verwendete Materialien	2
3.2.1 Antigen	2
3.2.2 Substanzen	3
3.2.3 Phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung	4
3.2.4 Pufferlösung	4
3.2.5 Medium für die Milzzellsuspension und zur Durchführung der Bestimmung der Anzahl der antikörperbildenden Zellen in der Milz	4
3.2.6 Agarlösung	4
3.2.7 Komplement	5
3.3 Immunisierung	5
3.4 Bestimmung der antikörperbildenden Zellen in der Milz in Anlehnung an N.K. Jerne, A.A. Nordin und C. Henry	5
3.5 Bestimmung der hämolysierenden Serum- antikörper in Anlehnung an I. Sabet, C. Newlin und H. Friedman	7
4. Ergebnisse und Diskussion	8
4.1 Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Gabe von Alginsäure im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung	8

	Seite
4.2 Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der injizierten Alginsäuredosis	12
4.3 Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort durch Alginsäure von der Antigendosis	16
4.4 Einfluß von Alginsäure auf die Kinetik der primären Immunantwort	19
4.5 Einfluß des Weges der Applikation von Alginsäure auf die Stimulierung der Immunantwort	21
4.6 Vergleich der Adjuvanswirkung der Alginsäure mit der von anderen Polyanionen	23
5. Zusammenfassung	25
6. Literaturverzeichnis	26

1. Einleitung

Immunologische Adjuvantien sind Substanzen, die die Immunantwort erhöhen können. Es ist seit langem bekannt, daß Desoxyribonucleinsäuren (DNA) und Ribonucleinsäuren (RNA) unterschiedlichster Herkunft die humorale Immunantwort erhöhen können (1). Vor kurzem konnte gezeigt werden, daß eine Reihe von negativ geladenen polymeren Substanzen (2, 4, 5, 6) ebenfalls eine Adjuvanswirkung zeigen. Nachdem vom chemischen Gesichtspunkt RNA und DNA auch als negativ geladene Polymere angesehen werden können, lag der Schluß nahe, daß die Adjuvanswirkung von DNA und RNA auf ihre polyanionische Natur zurückzuführen ist. Eine der ältesten Adjuvantien, Alginsäure (AS) (16), ist eine auf Maluron- und Guluronsäureeinheiten aufgebaute polymere Substanz und demnach nichts anderes als eine natürlich vorkommende hochmolekulare Substanz, welche im ionisierten Zustand (dank ihrer Carboxylgruppen) ein Polyanion darstellt. Polyanionen zeigen, was ihre Adjuvanswirkung auf die humorale Immunantwort anbelangt, ganz bestimmte Charakteristika (7): Sie wirken nur,

1. wenn sie kurz vor Antigengabe verabreicht werden (3, 5) und
2. wenn die Tiere mit suboptimalen Antigendosen immunisiert werden.

Es wäre deshalb zu erwarten, daß AS, wenn ihre Wirkung auf ihre polyanionische Struktur zurückzuführen ist, auch entsprechende Charakteristika aufweisen würde.

2. Aufgabenstellung

Es sollte untersucht werden, inwieweit AS sich wie andere Polyanionen verhält. Ihre Wirkung auf die humorale Immunantwort sollte dabei an mit Hammelerythrozyten (SRBC) immunisierten Mäusen untersucht werden. Als Maß für die humorale Immunantwort sollte:

1. Die Anzahl der antikörperbildenden Zellen (AKBZ) in der Milz und
2. die hämolysierenden Antikörpertiter in dem Serum der Tiere dienen.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Die Versuche wurden an 6-8 Wochen alten, weiblichen NMRI/Han. Mäusen aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, durchgeführt. Die Tiere erhielten Altromin R 10 Standardfutter und Wasser ad libitum.

3.2 Verwendete Materialien

3.2.1 Antigen

Hammelerythrozyten (SRBC = sheep red blood cells) der Behring-Werke, Marburg wurden nach Auswaschen des Stabilisators entsprechend den Angaben des Herstellers durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung in Suspensionen unterschiedlicher Erythro-

zytenkonzentrationen überführt. Die Konzentration wurde durch Zählung der Erythrozyten in einer Zählkammer in üblicher Weise bestimmt.

3.2.2 Substanzen

Als Substanzen wurden Alginsäure (AS) von G. Roth, OHG, Karlsruhe, batch Nr. 2-9696;

Dextransulfat (DS) Molekulargewicht 5×10^5 , von Serva Heidelberg, batch Nr. 18707;

Pentosansulfat (PS) Molekulargewicht 2×10^3 , von der Benechemie GmbH, München;

Polyäthylensulfat (PAS) Molekulargewicht $2,8 \times 10^4$, von der Höchst AG (freundlicherweise von Dr. Gehricke zur Verfügung gestellt);

Oxydierte Cellulose (OC) mit 12 - 14 % CO_2 H-Gruppen der Firma Serva Heidelberg;

Heparin (HEP) von der Firma Hoffmann-La Roche und

Polyacrylsäure (PAAC) Molekulargewicht 3×10^4 ,

(freundlicherweise von Dr. Gergs, Organisch-Chemisches Institut der Freien Universität Berlin, zur Verfügung gestellt) verwendet.

Doppelsträngige Polyinosyl-Polycytidylsäure (Poly I :

Poly C) bzw. Polyadenyl- Polyuridylsäure (Poly A :

Poly U) wurden durch Mischen von wäßrigen Lösungen

(Lösungsmittel: phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung = PBS) von äquimolaren Mengen der einzelnen

Nukleinsäuren (die Nukleinsäuren wurden von der Firma

Boehringer Mannheim bezogen) frisch hergestellt. Alle Substanzen wurden in PBS gelöst verwendet.

3.2.3 Phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung (PBS)

Stammlösung

NaCl 76,5 g, Na_2HPO_4 (anhydr.) 7,25 g, KH_2PO_4 2,12 g, ad 1 l mit aqua bidest.

Die Stammlösung hatte einen pH-Wert von 6,5. Vor Gebrauch wurde diese Stammlösung 1 : 10 mit aqua bidest verdünnt und anschließend der pH-Wert dieser Lösung mit 1 n HCl auf 7,0 - 7,1 eingestellt.

3.2.4 Pufferlösung

358 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ und 200 mg $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ von der Firma Merck, Darmstadt, wurden in einem Mörser fein zerrieben und in 1 l aqua bidest gelöst.

3.2.5 Medium für die Milzzellsuspension und zur Durchführung der Bestimmung der Anzahl der antikörperbildenden Zellen in der Milz

Eagle's minimum essential medium (MEM) mit Hank's Salzen (mit Glutamin ohne NaHCO_3) von der Firma Serva, Heidelberg, wurden mit der oben angegebenen Pufferlösung zu einem hypertonen Medium (10,7 g MEM + 800 ml Pufferlösung) gelöst und mit aqua dest. zu einem isotonen Medium verdünnt (100 ml hypertones Medium + 25 ml aqua bidest.).

3.2.6 Agarlösung

Es wurde Agarose A-37 der Firma L'industrie Biologique Francaise, Frankreich, verwendet.

250 mg Agarose wurden in 10 ml aqua bidest. eine halbe Stunde im Wasserbad gelöst und anschließend mit 40 ml auf 50° C erwärmtem hypertonen Medium vermischt.

Um eine bessere Haftung der Milzzell-Agarose-Suspension auf der Oberfläche der Objektträger zu erreichen, wurden die in Äthanol gereinigten Objektträger in 0,1%-ige heiße Agaroselösung getaucht und 1 h bei 80° C getrocknet.

3.2.7 Komplement

Es wurde Meerschweinchen-Komplement von der Firma Behring-Werke, Marburg verwendet.

Zur Bestimmung der Zahl der Antikörper-bildenden Zellen der Milz wurde das Komplement im Verhältnis 1 : 5 mit isotonem Medium verdünnt. Zur Bestimmung der hämolysierenden Antikörper wurde durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung eine 10%-ige Komplementlösung hergestellt.

3.3 Immunisierung

SRBC wurde in PBS suspendiert. Die Mäuse wurden mit verschiedenen Mengen SRBC (2×10^6 SRBC, 2×10^7 SRBC oder 2×10^8 SRBC) pro Maus intraperitoneal (i.p.) injiziert.

3.4 Bestimmung der Antikörper-bildenden Zellen in der Milz in Anlehnung an N.K. Jerne, A.A. Nordin und C. Henry (10)

Die Milzen der durch Dekapitation getöteten Tiere wurden gewogen und in einer abgemessenen Menge isotonen Mediums (2-5 ml) in einer Petrischale mit einer anatomischen Pinzette

zerdrückt bis der bindegewebige Schlauch der Milzkapsel makroskopisch kein rotes Gewebe mehr enthielt. Durch Ansaugen und Auspressen des Schaleninhaltes mit einer Einmalspritze wurde eine gleichmäßige Milzzellsuspension hergestellt und durch ein "100-mash" Stahlnetz filtriert.

Durch Verdünnung eines Teils dieser Suspension mit 3%-iger Essigsäure und Auszählen in der Zählkammer nach Schilling wurde nach entsprechender Umrechnung die Anzahl der kernhaltigen Zellen pro Milz ermittelt.)

Zur Bestimmung der Zahl der Hämolysehöfe-bildenden Zellen (Antikörper-bildende Zellen (AKBZ)) wurde ein abgemessenes Volumen (20-100 μ l) der Milzzellsuspension mit 0,25 ml 0,5%-iger Agarose-Medium-Lösung und 20 μ l einer 20%-igen SRBC-Suspension vermischt und auf einem (wie oben angegebenen)vorbehandelten Objektträger durch Ausstreichen schnell und gleichmäßig verteilt. Sobald der Agar erstarrt war, wurden die Objektträger mit der beschichteten Seite nach unten auf eine Inkubationsplatte gelegt, in isotones Medium eingebettet und 90 Min. bei 37⁰ C inkubiert.

Nach Abtropfen des Mediums wurden die Objektträger auf andere Inkubationsplatten gelegt und mit komplementhaltigem Medium im Verhältnis 1 : 1 versehen und bei gleicher Temperatur 60 Min. inkubiert. Danach wurde die Anzahl der kreisflächigen Stellen bestimmt, die durch Lyse der Hammelerythrozyten entstanden waren, die die Antikörper-bildenden Zellen umlagerten.

Beispiel für die Berechnung der AKBZ-Zahl der gesamten Milz bzw. bezogen auf 10^8 Milzzellen:

Die Suspension der Milzzellen befand sich in 2 ml isotonem Medium. Für den Ausstrich wurden von der Milzzellsuspension 20 μ l entnommen. Die Anzahl der AKBZ auf dem 1. Objektträger betrug 90, auf dem 2. Objektträger

110

200 (arithmetisches Mittel = 100)

Da in 20 μ l 100 AKBZ gefunden wurden, waren in 2 ml 100×100 AKBZ = 10.000 AKBZ vorhanden. Die gesamte Milz, die in 2 ml suspendiert worden war, enthielt also 10.000 Antikörper-bildende Zellen. Teilt man die AKBZ-Zahl der gesamten Milz durch die Leukozytenzahl in dieser Milz

(z. B. 12×10^8) : $\frac{10.000}{12 \times 10^8} = 833 \frac{\text{AKBZ}}{10^8}$ Milzzellen,

so erhält man die Anzahl der Antikörper-bildenden Zellen pro 10^8 Milzzellen.

4.5 Bestimmung der hämolysierenden Serumantikörper in Anlehnung an I. Sabet, C. Newlin und H. Friedman (13).

Das Blut der durch Dekapitation getöteten Tiere wurde mit Glastrichtern in Reaktionsgefäßen von Eppendorf aufgefangen. Durch Zentrifugieren wurden die Seren gewonnen, bei -18°C eingefroren und bis zum Gebrauch aufbewahrt.

Bei den zur Titerbestimmung hergestellten Verdünnungsreihen standen Serum und physiologische Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, usw., d.h. die Verdünnungen entsprachen $2_{\log x}$.

Zur Bestimmung der Antikörper wurden 0,2 ml Serum mit 0,2 ml 0,9% NaCl-Lösung vermischt, d.h. es wurde von dem Verdünnungsverhältnis 1 : 4 ausgegangen.

Jedem Reagenzglas der Verdünnungsreihen zur Bestimmung der Hämolyse wurde ein gleiches Volumen (0,2 ml) einer Suspension, die sich zu gleichen Teilen aus 1%-iger SRBC-Suspension und 10%-iger Meerschweinchen-Komplementlösung zusammensetzte, zugegeben. Nach kräftigem Schütteln wurden diese Reagenzgläser dann 1 h bei 37° C inkubiert und anschließend die letzte positive Verdünnungsstufe ermittelt, d.h. das Reagenzglas, in dem eine vollständige Hämolyse der Erythrozyten gerade noch zu erkennen war (15).

4. Ergebnisse und Diskussion

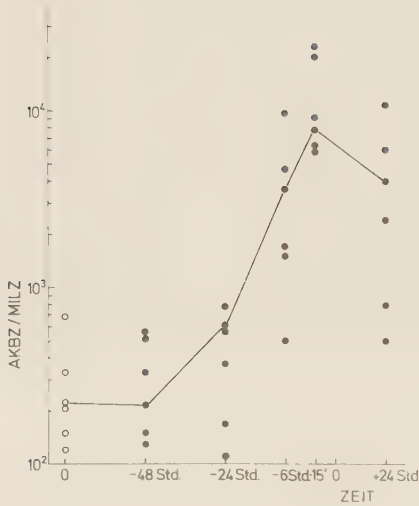
4.1 Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Gabe von Algin-säure im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung

Da der Zeitpunkt der Gabe eines Polyanions im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung von ausschlaggebender Bedeutung ist, wurde zunächst bei Immunisierung von Mäusen mit einer suboptimalen Antigendosis eine konstante Menge von AS (4 mg/Maus) intraperitoneal (i.p.) injiziert. 4 Tage nach Immunisierung wurde dann die Anzahl der AKBZ bestimmt.

Wie aus Abbildung 1a und 1b hervorgeht, ließ sich eine optimale Stimulierung der Immunantwort dann erzielen, wenn man

AS kurz vor Antigengabe injiziert hat, 1 oder 2 Tage vor Immunisierung verabreichte AS zeigte keine signifikante Wirkung. 6 Stunden vor oder bis sogar 24 Stunden nach Antigengabe injizierte AS erhöhte die Immunantwort signifikant. Daß AS auch 1 Tag nach Immunisierung die Immunantwort positiv beeinflussen kann, ist bis jetzt bei keinem Polyanion festgestellt worden. Alle bisher untersuchten Polyanionen zeigten nämlich 24 Stunden nach Antigengabe keinen Effekt auf die Immunantwort. Diese Besonderheit der AS läßt vermuten, daß sie nicht nur bei der Induktion der Immunantwort eine Rolle spielt, sondern auch die später stattfindenden Prozesse beeinflussen muß.

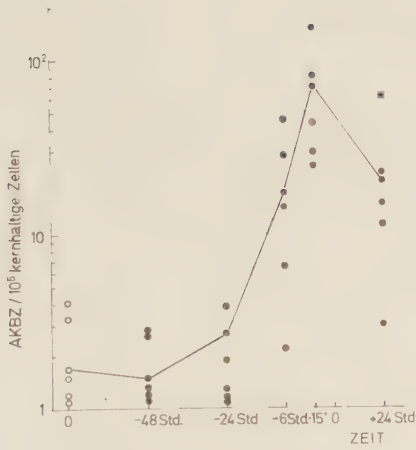
Abb. 1 a



Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Gabe von Alginsäure
im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung

Zeitpunkt der Applikation von AS im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung = 0, Kontrolle (○) = ohne AS
Gruppen von Mäusen (6 Mäuse/Gruppe) (●) wurden intraperitoneal 4 mg AS zu verschiedenen Zeitpunkten vor oder nach Antigengabe injiziert. Antigen (2×10^6 SRBC/Maus) wurde zum Zeitpunkt 0 i.p. injiziert. Antikörper-bildende Zellen (AKBZ) wurden 4 Tage nach Antigengabe bestimmt.

Abb. 1 b



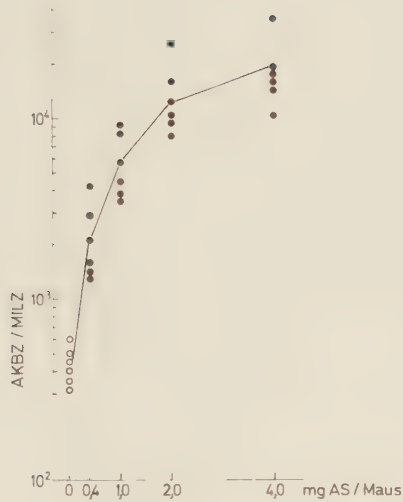
Zur Versuchsbeschreibung siehe Legende zu Abb. 1 a

4.2 Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der injizierten Alginsäuredosis.

Es wurde versucht, die Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der injizierten AS zu bestimmen. Kontrolltiere wurden mit einer suboptimalen Antigendosis von 2×10^6 SRBC i.p. immunisiert, andere Gruppen von Tieren erhielten 15 Min. vor der Immunisierung steigende Dosen AS von 0,4 - 4 mg i.p. verabreicht. Vier Tage später sind die Anzahl der 19S Antikörper-bildenden Zellen, sowie die gegen SRBC gerichteten, hämolysierenden Antikörpertiter bestimmt worden.

Wie aus Abb. 2 a und 2 b hervorgeht, führten 2 mg AS/Maus schon zu einer optimalen Stimulierung der Immunantwort, wenn AS zum vorhin ermittelten optimalen Zeitpunkt verabreicht wurde. Schon 0,4 mg AS/Maus reichten aus, um die Immunantwort signifikant zu erhöhen.

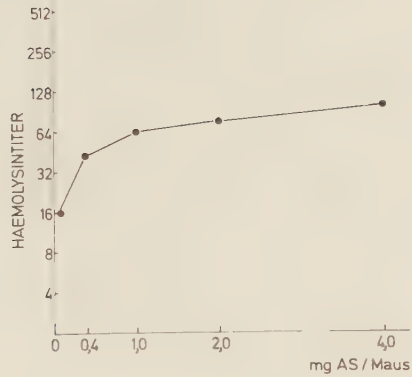
Abb. 2 a



Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der injizierten Alginsäuredosis

Die Mäuse bekamen 2×10^6 SRBC injiziert und wurden 15 Min. vor der Antigengabe mit verschiedenen Alginsäuredosen behandelt (●). Sowohl das Antigen als auch die AS wurden intraperitoneal injiziert. Die Kontrolltiere erhielten nur das Antigen (○). Die Immunantwort wurde 4 Tage nach der Injektion bestimmt.
AKBZ = Antikörper-bildende Zellen

Abb 2 c



Hämolisierende Antikörpertiter

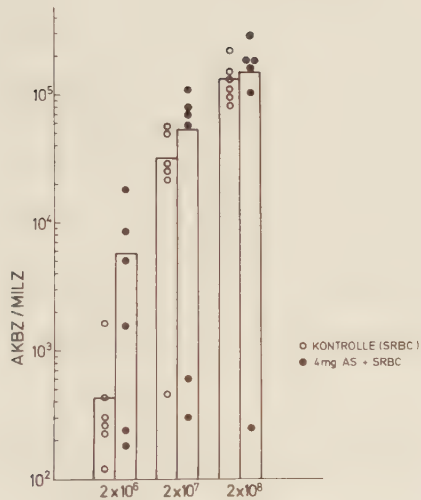
Zur Versuchsbeschreibung siehe Legende zu Abb. 2 a

4.3 Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort durch Alginsäure von der Antigendosis

Wie schon vorher an Beispielen von anderen Polyanionen gezeigt wurde, scheinen Polyanionen nur bei suboptimalen Antigendosen die Immunantwort zu erhöhen. Um zu prüfen, ob dieses auch für AS zutrifft, wurden Mäuse (6 Mäuse / Gruppe) mit steigender Anzahl von SRBC (2×10^6 ; 2×10^7 ; 2×10^8) i.p. immunisiert (Kontrolle). Andere Gruppen von Mäusen, die mit den gleichen steigenden SRBC-Dosen immunisiert wurden, erhielten 15 Min. vor der Immunisierung 4 mg AS intraperitoneal verabreicht. Vier Tage später sind dann die Anzahl der Antikörperbildenden Zellen bzw. die gegen SRBC gerichteten hämolyisierenden Antikörper bestimmt worden.

Wie aus Abb. 3 a und 3 b hervorgeht, erhöht 4 mg AS die Immunantwort gegen SRBC im Vergleich zu den Kontrolltieren nur dann signifikant, wenn die Tiere mit 2×10^6 SRBC immunisiert waren. Bei Tieren, die mit 2×10^7 SRBC immunisiert waren, ergab sich nur eine geringfügige Erhöhung der Immunantwort; bei denen, die mit 2×10^8 SRBC immunisiert waren, war keine Erhöhung festzustellen.

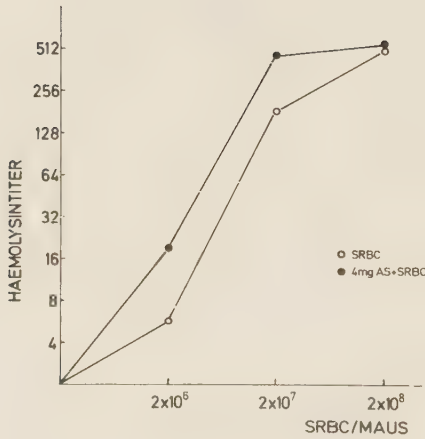
Abb. 3 a



Abhängigkeit der Adjuvanswirkung von Alginsäure von der Antigenendosis

Gruppen von Mäusen wurden entweder mit unterschiedlichen Dosen von SRBC i.p. immunisiert (Kontrolle ○) oder bekamen vor Antigengabe jeweils 4 mg AS i.p. injiziert (●).

Abb. 3 b



Hämolysierende Antikörpertiter

Zur Versuchsbeschreibung siehe Legende zu Abb. 3 a.

4.4 Einfluß von Alginsäure auf die Kinetik der primären Immunantwort

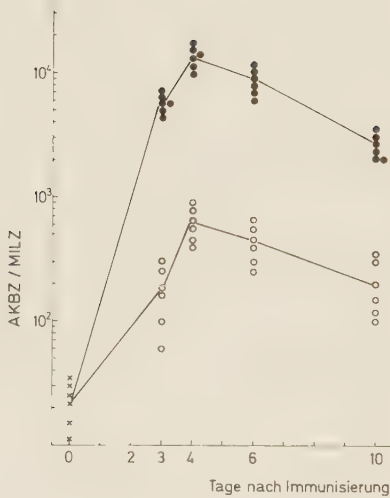
Es wurde der Einfluß von AS auf die Kinetik der primären Immunantwort bei mit suboptimalen Antigendosen geimpften Mäusen untersucht. Als Maß diente dabei die Anzahl der AKBZ in den Milzen der Tiere.

Kontrollmäuse sind mit 2×10^6 SRBC immunisiert worden. Andere Gruppen von Mäuse erhielten 15 Min. vor der Immunisierung i.p. 4 mg AS verabreicht.

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, erhöhte AS die AKBZ gegenüber den Kontrollen signifikant. Es kam auch zu einem schnelleren Einsetzen und einem stärkeren Anstieg der 19S AKBZ bei AS-behandelten Tieren im Vergleich mit den Kontrolltieren.

Diese Ergebnisse zeigen eindeutig, daß AS die Immunantwort nicht nur zeitweilig, sondern während des ganzen Verlaufs erhöht.

Abb. 4



Kinetik der Antikörper-bildenden Zellen in der Milz unter dem Einfluß von Alginsäure

Eine Gruppe von Mäusen (= Kontrolle ○) wurde mit 2×10^6 SRBC i.p. immunisiert. Andere Gruppen von Tieren (= Versuch ●) erhielten 15 Min. vor Immunisierung mit 2×10^6 SRBC 4 mg Alginsäure i.p. injiziert.

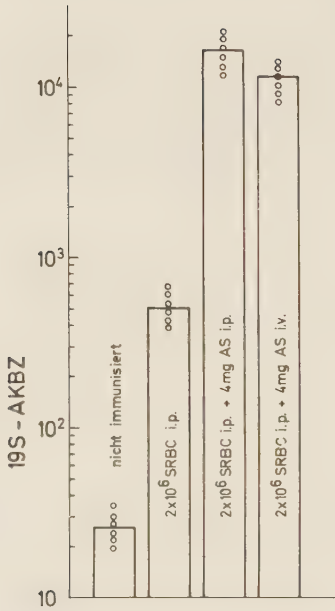
4.5 Einfluß des Weges der Applikation von Alginsäure auf die Stimulierung der Immunantwort

Um zu prüfen, inwieweit AS nur mit dem Antigen gemeinsam verabreicht als Adjuvans wirkt, oder ob sie vielleicht ihre Adjuvanswirkung auch dann behält, wenn sie auf verschiedenen Wegen injiziert wird, sind die folgenden Versuche durchgeführt worden.

Drei Gruppen von Mäusen sind mit 2×10^6 SRBC i.p. immunisiert worden. Eine Gruppe erhielt 15 Min. vorher 4 mg AS i.p. verabreicht, eine andere Gruppe erhielt dieselbe Menge AS intravenös (i.v.) injiziert. 4 Tage später ist die Anzahl der AKBZ in den Milzen der Tiere bestimmt worden.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, erhöht AS die Immunantwort, sowohl wenn man sie auf dem gleichen Wege wie das Antigen verabreicht, als auch wenn man Antigen und AS auf verschiedenen Wegen injiziert. In dieser Hinsicht gleicht die AS weitgehendst den anderen Polyanionen.

Abb. 5



Einfluß des Weges der Applikation von Alginäure auf
die Stimulierung der Immunantwort

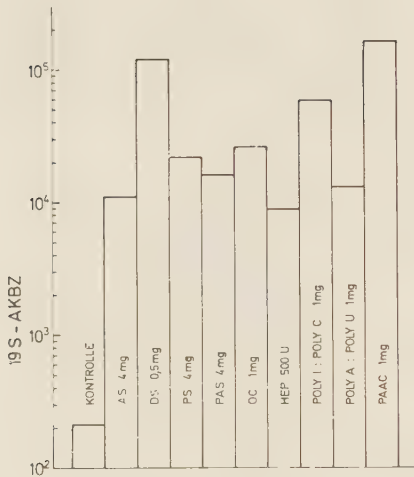
4.6 Vergleich der Adjuvanswirkung der Alginsäure mit der von anderen Polyanionen

Um die Adjuvanswirkung von AS mit der von anderen Polyanionen vergleichen zu können, sind Gruppen von Mäusen mit 2×10^6 SRBC immunisiert worden. Die Mäuse erhielten 15 Min. vor Immunisierung folgende Polyanionen verabreicht:

AS	=	Alginsäure
DS	=	Dextransulfat (9)
PS	=	Pentosansulfat (6)
OC	=	Oxydierte Cellulose (14)
PÄS	=	Polyäthylensulfat (11)
PAAC	=	Polyacrylsäure (8)
HEP	=	Heparin (12)
Poly I : Poly C	=	Doppelsträngige Polyinosyl- Polycytidyl- säure (16)
Poly A : Poly U	=	Doppelsträngige Polyadenyl- Polyuridyl- säure (3, 16)

Die Substanzen wurden in der schon vorher ermittelten optimalen Dosis (siehe dazu Angaben in der Abb. 6) injiziert.

Abb. 6



Vergleich der Adjuvanswirkung von Alginsäure mit der
Adjuvanswirkung von anderen Polyanionen

Wie aus Abb. 6 hervorgeht, ist AS zumindest in diesem System in der Wirkung am ehesten mit Heparin vergleichbar und ein wesentlich schwächeres Adjuvans als DS und PAAC. Die Anzahl der AKBZ stellen Mittelwerte dar und wurden in den gepoolten Milzen von je 6 Versuchstieren 4 Tage nach Immunisierung der Tiere (mit 2×10^6 SRBC i.p. injiziert) bestimmt, (Einzelheiten siehe methodischer Teil). Die in Abb. 6 angegebenen Dosen der entsprechenden Substanzen wurden i.p. 15 Min. vor Antigengabe verabreicht. Kontrolle: 2×10^6 SRBC i.p. 15 Min. vor Immunisierung mit 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung injiziert.

5. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß von Alginsäure (AS) auf die humorale Immunantwort von Mäusen untersucht. Die Mäuse sind mit Hammelerythrozyten immunisiert worden. Als Maß für die Immunantwort dienten die Anzahl der AKBZ in der Milz der Tiere bzw. die gegen SRBC gerichteten Antikörpertiter im Serum der Versuchstiere. Alginsäure erhöhte die Immunantwort nur dann, wenn die Tiere mit einer suboptimalen Antigendosis immunisiert wurden. Eine optimale Stimulierung der Immunantwort erhielt man bei Tieren, denen 2-4 mg AS verabreicht wurden, und zwar dann, wenn man sie den Tieren 15 Min. vor Antigengabe injizierte. Es kam dabei zu einer länger anhaltenden und früher einsetzenden Immunantwort. AS erzielte die gleiche Immunantwort auch dann, wenn man sie intravenös (i.v.) verabreichte, und das Antigen dabei intraperitoneal (i.p.) injiziert wurde. Anscheinend ist ein direkter Kontakt von Antigen und AS für die Adjuvanswirkung der AS nicht erforderlich. Ein Vergleich der Wirkung von AS mit anderen bekannten Polyanionen zeigt, daß sie sich in dem untersuchten System ähnlich verhält wie andere Polyanionen, mit dem einen Unterschied, daß sie auch die Immunantwort erhöhen kann, wenn sie bis zu einem Tag nach Antigengabe verabreicht wird. Diese Besonderheit der AS bedarf noch einer weiteren Klärung.

6. Literaturverzeichnis

1. W. Braun und M. Nakano Antibody Formation: Stimulation by polyadenylic and polycytidylic acids. Science 1967, 157:819
2. W. Braun, W. Regelson, Stimulation of antibody formation
Y. Yajima und M. Ishi- by pyran copolymer.
zuka Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1970,
133:171
3. W. Braun, Y. Yajima, Spectrum and mode of action of
M. Ishizuka, D. Webb poly A : U in the stimulation of
and R. Winchurch immune response.
In : Biological Effects of Poly-
nucleotides.
Edited by R.F. Beersand, W. Braun,
Springer Verlag, N.Y. 1971, 139
4. T. Diamantstein, The influence of polyacrylic acid
B. Wagner, I. Beyse, on the primary immune response
M.-V. Odenwald und in mice.
G. Schulz Europ.J.Immunol. 1971, 1 : 335
5. T. Diamantstein, The influence of sulfate esters of
B. Wagner, I. Beyse, polymers on the immune response
M.-V. Odenwald und in mice.
G. Schulz Europ.J. Immunol. 1971, 1 : 340
6. T. Diamantstein, Stimulation of humoral immune
C. Stork, R. Malchus response by pentosansulfate SP 54.
Experientia 1973, 29 : 214

7. T. Diamantstein Chemische Charakteristika polyanionischer Adjuvantien. Vortrag im Weizmann Institut of Science (Mai 1972)
8. T. Diamantstein, Stimulation of humoral antibody formation by polyanions.
B. Wagner, G. Schulz, I. The effects of polyacrylic acid on the primary immune response in mice immunized with sheep red blood cells.
M.-V. Odenwald Europ. J. Immunol. 1971, 1 : 335
9. T. Diamantstein, Stimulation of humoral antibody formation by polyanions. IV. The effects of Dextran sulfate on the kinetics of secondary immune response in mice.
B. Wagner, G. Schulz, Europ. J. Immunol. 1971, 1 : 426
M.-V. Odenwald
10. N. K. Jerne, A.A. Nor- Cell bound antibodies.
din and C. Henry Edited by Amos, B. and Koprowski, H. The Wistar Institute, Press Philadelphia 1963, 109
11. J. Kielmann Untersuchung des Einflusses von Polyäthylensulfat auf die humorale Immunantwort bei der Maus.
Dissertation, Freie Universität Berlin, 1973
12. D. Odenwald Untersuchungen über die Adjuvanswirkung von Heparin.
Dissertation, Freie Universität Berlin, 1975

13. Sabet, G. Newlin and H. Friedman Effects of RES "blockade" on antibody formation.
Immunology 1969, 16 : 433
14. R. Schmüderich Stimulierung der humoralen Immunantwort durch oxydierte Cellulose.
Dissertation, Freie Universität Berlin, 1973
15. A.B. Stavitsky Micromethods for the study of proteins and antibodies.
J. Immunol. 1954, 72 : 360
16. Robert G. White Antigen adjuvants in Modern trends in Immunology 1967, 2 : 28
Edited by R. Cruickshank and D.M. Weir.

Herrn Professor Dr. rer.nat. Tibor Diamantstein
möchte ich für die Überlassung des Themas und die
freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der
Arbeit herzlich danken.

In der praktischen Laborarbeit waren mir Fräulein
M. -V. Odenwald und Fräulein G. Schulz eine wertvolle
Hilfe.

Lebenslauf

Name: Gabriele Wieland-Odenwald, geb. Odenwald

Geburtsdatum: 3. Dezember 1947

Geburtsort: Glandorf Kreis Osnabrück

Eltern: Dr. med. Walter Odenwald und
Lucie, geb. Wagner

Schulen: 1954-1958 Grundschule in Ostercappeln
1958-1962 St. Ursula Gymnasium in
Bielefeld-Schildesche
1962-1967 Landschulheim Schloß Heessen,
Neusprachliches Gymnasium in
Heessen/Westf.
Juli 1967 Reifeprüfung im Landschulheim
Schloß Heessen

Studium: 1967-1968 Studium der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin
1968-1973 Studium der Zahnmedizin an der
Freien Universität Berlin
Juli 1973 Approbation als Zahnärztin.
Seit dem 1. Oktober 1973
Tätigkeit als Assistenzzahnärztin

